

**PENGARUH Fe^{2+} PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN
2,4-D YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN AIR KELAPA
TERHADAP PERKEMBANGAN DAN KANDUNGAN
METABOLIT SEKUNDER ASIATIKOSIDA DAN
MADEKASOSIDA KALUS PEGAGAN
(*Centella asiatica* L.Urban)**

SKRIPSI

Oleh:
LULUK LUGIATI SHOLIKHAH
NIM 10620093



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**PENGARUH Fe^{2+} PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN
2,4-D YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN AIR KELAPA
TERHADAP PERKEMBANGAN DAN KANDUNGAN
METABOLIT SEKUNDER ASIATIKOSIDA DAN
MADEKASOSIDA KALUS PEGAGAN
(*Centella asiatica* L.Urban)**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memperoleh Salah Satu Gelar Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**Oleh:
LULUK LUGIATI SHOLIKHAH
NIM 10620093**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2014**

**PENGARUH Fe^{2+} PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN
2,4-D YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN AIR KELAPA
TERHADAP PERKEMBANGAN DAN KANDUNGAN
METABOLIT SEKUNDER ASIATIKOSIDA DAN
MADEKASOSIDA KALUS PEGAGAN
(*Centella asiatica* L.Urban)**

SKRIPSI

Oleh:

**LULUK LUGIATI SHOLIKHAH
NIM 10620093**

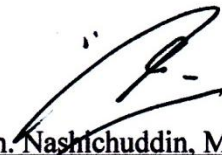
Telah Disetujui Oleh:

Dosen Pembimbing I,



Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

Dosen Pembimbing II,



Ach. Nashichuddin, M.A
NIP. 19730705 2000311 002

**Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi**




Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

**PENGARUH Fe^{2+} PADA MEDIA MS DENGAN PENAMBAHAN
2,4-D YANG DIKOMBINASIKAN DENGAN AIR KELAPA
TERHADAP PERKEMBANGAN DAN KANDUNGAN
METABOLIT SEKUNDER ASIATIKOSIDA DAN
MADEKASOSIDA KALUS PEGAGAN
(*Centella asiatica* L.Urban)**

SKRIPSI

Oleh:

**LULUK LUGIATI SHOLIKHAH
NIM 10620093**

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal 14 Juli 2014

Penguji Utama	<u>Dr. H. Eko Budi Minarno, M.Pd</u> NIP. 19630114 199903 1 001
Ketua Penguji	<u>Ruri Siti Resmisari, M.Si</u> NIP. 2014 0201 2423
Sekretaris Penguji	<u>Dr. Evika Sandi Savitri, M.P</u> NIP. 19741018 200312 2 002
Anggota Penguji	<u>Ach.Nashichuddin, M.A</u> NIP. 197307052000311 002

[Handwritten signatures of the examiners]

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi

[Handwritten signature of Dr. Evika Sandi Savitri]

Dr. Evika Sandi Savitri, M.P
NIP. 19741018 200312 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Luluk Lugiati Sholikhah

NIM : 10620093

Jurusan : Biologi

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul : Pengaruh Fe^{2+} pada MS dengan Penambahan 2,4-D yang Dikombinasikan dengan Air Kelapa terhadap Perkembangan dan Kandungan Metabolit Sekunder Asiatikosida dan Madekasosida Kalus Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban)

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 15 Juli 2014
Yang Membuat Pernyataan,



Luluk Lugiati Sholikhah
NIM. 10620093

MOTTO

فَبِأَيِّ آلَاءِ رَبِّكُمَا تُكَذِّبَانِ

“Maka nikmat Tuhan kamu yang manakah yang kamu dustakan?”

“A little knowledge that acts is worth infinitely more than much knowledge that is idle “

**“ Bermimpilah maka Tuhan akan memeluk mimpi-mimpimu”
Keep Smile ☺**



Karya ini aku Persembahkan untuk Pahlawan dan Motivatorku Bapak Suroso dan ibu Suliati serta pangeran kecilku adek Ibnu.....

Terima kasih bapak dan ibuku tercinta yang selalu mendo'akan anakmu, memberi nasehat, memberi semangat, mengorbankan jiwa dan ragamu hanya demi putri kecilmu.....
Semoga engkau selalu menjadi inspirasi dalam kehidupanku.....

Terima kasih yang tiada hingga untuk Saudara Mahrus Ali yang selalu bersedia mendampingi saya, meluangkan waktu, fikiran dan tenaga serta memberikan dukungan yang luar biasa agar terselesaikan karya ini.....

Terima kasih juga untuk teman-teman seperjuanganku di laboratorium kultur, khususnya Saudari Feni (susah dan senang telah kita lalui hingga akhirnya perjuangan kita berhasil), tidak lupa juga ni'mah, luluk wahyu, shon, dan elik semoga silaturahmi kita tetap terjalin.....

Terima kasih saya ucapkan untuk teman-teman kingdom biologi C dan teman-teman angkatan biologi 2010, berkat kalian semua saya belajar dan mendapatkan saudara baru. Semoga persahabatan kita tetap terjaga.....

Terima kasih saya ucapkan untuk sahabat terbaikku Nita Andrini, Novi dan Khotim. Kalian telah mengajarku arti sebuah persahabatan dan kebersamaan.....

Tidak lupa juga teman-teman asisten, para laboran mbak Lil, Mas Basyar, Mas Zulfan, Mbak Retno dan mas Shaleh terima kasih sudah membantu saya dalam menyelesaikan karya ini.....

Terima kasih juga untuk kakak-kakak di racana UIN Malang, Sahabat-sahabatiku di PMII Rayon Pencerahan Galileo. Bersama kalian telah aku arungi masa demi masa yang sangat berkesan dan menjadi warna dalam hidupku.....

“Thank you so Much for All”



KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Wr. Wb.

Syukur alhamdulillah penulis haturkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan Rahmat dan Hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Pengaruh Fe^{2+} pada Media MS dengan Penambahan 2,4-D yang Dikombinasikan dengan Air Kelapa terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Asiatikosida dan Madekasosida Kalus Pegagan (*Centella Asiatica* L.Urban)” ini. Shalawat serta salam senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan sahabatnya.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih seiring doa dan harapan *jazakumullah ahsanal jaza'* kepada semua pihak yang telah membantu terselesaikannya skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. H. Mudjia Rahardjo, M.Si, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Drh. Hj. Bayyinatul Muchtaramah, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Dr. Evika Sandi Savitri, M.P, selaku dosen pembimbing Jurusan Biologi yang telah sabar memberikan bimbingan, arahan dan memberikan waktu untuk membimbing penulis sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
5. Ach. Nashichuddin, M.A, selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang memberikan arahan serta pandangan sains dari perspektif Islam sehingga skripsi ini bisa terselesaikan.
6. Suyono, M.P, selaku dosen wali yang telah membimbing dan mengarahkan perjalanan panjang selama di jurusan biologi
7. Kedua orang tua penulis Bapak Suroso dan Ibu Suliati tercinta yang senantiasa memberikan kasih sayang, doa, motivasi dan dorongan semangat kepada penulis selama ini.

8. Segenap sivitas akademika Jurusan Biologi, terutama seluruh Bapak dan Ibu dosen, terimakasih atas segenap ilmu dan bimbingannya.
9. Seluruh teman-teman biologi angkatan 2010 yang berjuang bersama-sama untuk mencapai kesuksesan yang diimpikan.
10. Semua pihak yang turut membantu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa materiil maupun moril

Semoga Allah SWT memberikan balasan atas bantuan dan pemikirannya. Akhir kata, penulis berharap skripsi ini Bisa memberikan manfaat bagi penulis khususnya dan bagi pembaca pada umumnya serta menambah khasanah ilmu pengetahuan. *Amin Ya Rabbal Alamin.*

Wassalamu 'alaikum Wr.Wb

Malang, 16 Juli 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGANTAR.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
ABSTRAK	xvi
 BAB I PENDAHULUAN.....	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	8
1.3 Tujuan Penelitian	9
1.4 Hipotesis.....	9
1.5 Manfaat Penelitian	10
1.6 Batasan Masalah.....	10
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Pegagan (<i>Centella asiatica</i>)	11
2.1.1 Deskripsi	11
2.1.2 Manfaat Pegagan.....	13
2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia Pegagan	14
2.2 Kultur Jaringan Tumbuhan	16
2.2.1 Pengertian Kultur Jaringan Tumbuhan	16
2.2.2 Faktor-Faktor Yang Mempengaruhi Kultur Jaringan Tumbuhan	17
2.2.3 Zat Pengatur Tumbuh.....	21
2.2.3.1 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid	22
2.2.3.2 Air Kelapa	23
2.3 Teknik Kultur Kalus Untuk Memproduksi Metabolit Sekunder.....	24
2.3.1 Tekstur Kalus.....	27
2.3.2 Warna Kalus	28
2.4 Metabolit Primer	29
2.5 Metabolit Sekunder	31
2.6 Senyawa Asiatikosida dan Madekasosida	35
2.6.1 Senyawa Asiatikosida dan Madekakosida.....	35

2.6.2 Biosintesis Senyawa Asiatikosida dan Madekasosida.....	36
2.7 Elisitasi	39
2.8 Peran Besi (Fe^{2+}) Sebagai Elisitor Abiotik	41
2.9 Metode KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi).....	43
2.10 Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman dalam Al-Qur'an.....	44

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat	48
3.2 Rancangan Penelitian	48
3.3 Alat dan Bahan	49
3.3.1 Alat	49
3.3.2 Bahan	49
3.4 Langkah Kerja	49
3.4.1 Sterilisasi Alat	49
3.4.2 Pembuatan Media	50
3.4.2.1 Pembuatan Media Induksi Kalus	50
3.4.2.2. Pembuatan Media Subkultur	51
3.4.3 Sterilisasi Media	51
3.4.4 Sterilisasi Ruang Tanam	52
3.4.5 Tahap Induksi Kalus	52
3.4.5.1 Sterilisasi Eksplan di luar LAF	52
3.4.5.2 Sterilisasi Eksplan di dalam LAF.....	52
3.4.5.3 Penanaman Eksplan	53
3.4.5.4 Tahap Pemeliharaan	53
3.4.6 Tahap Subkultur	53
3.4.7 Tahap Pengamatan	54
3.4.8 Tahap Uji Fitokimia (Metabolit Sekunder).....	55
3.5 Analisis Data	56

BAB IV : HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pengaruh Pemberian Ion Fe^{2+} terhadap Perkembangan Morfologi (Warna, Tekstur dan Berat) Kalus Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L. Urban) Secara <i>In vitro</i>	57
4.1.1 Warna Kalus	57
4.1.2 Tekstur Kalus.....	63
4.1.3 Berat Kalus	66
4.2 Pengaruh Pemberian Ion Fe^{2+} Terhadap Kandungan Metabolit Sekunder Asiatikosida dan Madekasosida Kalus Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L. Urban) Secara <i>In vitro</i>	69
4.3 Perlakuan terhadap Pertumbuhan Tanaman dalam Pandangan Islam.....	78

BAB V. PENUTUP

5.1 Kesimpulan	82
5.2 Saran.....	83

DAFTAR PUSTAKA	84
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	94
----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Pegagan.....	13
Gambar 2.2 Struktur Kimia 2,4-D	23
Gambar 2.3 Tekstur Kalus	27
Gambar 2.4 Kategori Scoring Warna Kalus Jarak Pagar.....	29
Gambar 2.5 Skema Biosintesis Metabolit Primer	31
Gambar 2.6 Stuktur Kimia Senyawa Asiatikosida dan Madekasosida	36
Gambar 2.7 Biosintesis Senyawa Asiatikosida dan Madekasosida	38
Gambar 4.1 Perubahan Warna Kalus Pegagan Setelah Subkultur	61
Gambar 4.1 Tekstur Kalus pada Media Perlakuan dengan Penambahan Fe^{2+}	65
Gambar 4.3 Diagram Berat Akhir Kalus Pegagan (<i>Centella asiatica</i> L.Urban).....	68
Gambar 4.4 Diagram Kandungan Metabolit Sekunder Asiatikosida.....	72
Gambar 4.5 DiagramKandungan Metabolit Sekunder Madekasosida.....	74

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Komposisi Senyawa Kimia dalam Air Kelapa	24
Tabel 4.1 Warna Kalus Pegagan (<i>C. asiatica</i>) pada Media Perlakuan Subkultur.....	58
Tabel 4.2 Tekstur Kalus Setelah Subkultur 4 Minggu	64
Tabel 4.3 Berat Kalus Awal Subkultur dan Akhir Sunkultur	67
Tabel 4.4 Hasil Uji Jarak Duncan terhadap Kadar Senyawa Asiatikosida	71
Tabel 4.5 Hasil Uji Jarak Duncan terhadap Kadar Senyawa Madekasosida	73

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Skema Kerja Penelitian	94
Lampiran 2 Skema Kerja Tahapan Sterilisasi Alat	95
Lampiran 3 Perhitungan Molaritas.....	96
Lampiran 4 Hasil Penelitian.....	98
Lampiran 5 Anava.....	100
Hasil ANAVA Berat Kalus Pegagan	100
Hasil ANAVA kandungan Senyawa Asiatikosida	100
Hasil Uji DMRT 5% Kandungan Senyawa Asiatikosida.....	100
Hasil ANAVA Kandungan Senyawa Masekasosida.....	101
Hasil Uji DMRT 5% Kandungan Senyawa Masekasosida	101
Lampiran 6 Komposisi Media.....	102
Lampiran 7 Gambar Alat, Bahan dan Kegiatan	103
Gambar Alat	103
Gambar Bahan	104
Gambar Kegiatan Penelitian.....	105
Lampiran 8 Hasil Analisis senyawa asiatikosida dan madekasosida.....	106
Lampiran 9 Bukti Konsultasi	122
Lampiran 10 Daftar Riwayat Hidup.....	124

ABSTRAK

Sholikhah, Luluk. L. 2014. **Pengaruh Fe^{2+} pada Media M S dengan Penambahan 2,4-D yang Dikombinasikan dengan Air Kelapa Terhadap Perkembangan dan Kandungan Metabolit Sekunder Asiatikosida dan Madecassosida Kalus Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban).** Skripsi, Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr. Evika Sandi Savitri, M.P dan Dosen Pembimbing Agama: Ach. Nashichuddin, M.A.

Kata kunci: *Elisitasi, Ion logam Fe^{2+} , Pegagan (*Centella asiatica*), Asiaticoside dan madecassoside*

Pegagan (*Centella asiatica* L. Urban) merupakan salah satu tanaman obat yang mengandung berbagai kandungan metabolit sekunder diantaranya adalah *asiaticoside* dan *madecassoside*. Kandungan metabolit sekunder dari tanaman pegagan berkhasiat untuk daya ingat, luka bakar, hipertensi, penyakit syaraf, asma, bronchitis dan urenitis. Kandungan metabolit sekunder dapat ditingkatkan dengan elisitasi menggunakan elisitor ion logam Fe^{2+} . Pemberian ion logam Fe^{2+} pada media subkultur akan menyebabkan adanya cekaman sehingga mengakibatkan produksi metabolit sekunder meningkat.

Penelitian menggunakan metode RAL dengan satu faktor yaitu konsentrasi Fe^{2+} . Penelitian diawali dengan induksi kalus selama 46 hari kemudian kalus disubkultur kedalam media perlakuan dengan konsentrasi Fe^{2+} (0,90,100,110 μ M). Parameter yang diamati yaitu morfologi kalus (warna dan tekstur kalus), berat kalus dan kandungan metabolit sekunder *asiaticoside* dan *medacassoside*. Pengamatan morfologi kalus dilakukan secara visual setiap minggunya, sedangkan pada minggu keempat berat kalus ditimbang menggunakan timbangan, dan kandungan metabolit sekunder dianalisis menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Cromatography*). Data kualitatif diuji menggunakan ANOVA *one way*, sedangkan data kualitatif dianalisis secara deskriptif.

Hasil uji ANOVA menunjukkan bahwa pemberian Fe^{2+} berpengaruh terhadap warna dan kandungan metabolit sekunder *asiaticoside* dan *madecacosside*, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap tekstur dan berat kalus. Semakin tinggi konsentrasi Fe^{2+} yang ditambahkan pada media perlakuan menjadikan warna kalus lebih pekat yang menandakan kandungan metabolit sekundernya semakin tinggi. Berat kalus tertinggi didapatkan pada perlakuan Fe^{2+} konsentrasi 110 μ M yaitu 0,283 g. Kandungan metabolit sekunder *asaiticoside* dan *madecacosside* tertinggi pada perlakuan dengan penambahan Fe^{2+} dengan konsentrasi 100 μ M yaitu 3,792 g/100g dan 4,423 g/100g. Konsentrasi Fe^{2+} yang optimal untuk perkembangan kalus dan kandungan metabolit sekunder *asiaticoside* dan *madecacosside* adalah pada konsentrasi 100 μ M.

ABSTRACT

Sholikhah, Luluk. L. 2014. **The Influence of Fe^{2+} on MS Medium by Additional 2,4-D that Combined with Coconut Water about Development and Secondary Metabolite of Asiaticoside and Madecasoside Callus Pennywort (*Centella asiatica* L.Urban).** Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Maulana Malik Ibrahim State Islamic University of Malang. Supervisor: Dr. Evika Sandi Savitri, M.P and Supervisor of Religion: Ach. Nashichuddin, M.A.

Kata kunci: *Elicitation, metal Ion of Fe^{2+} , Pennywort *Centella asiatica*), Asiaticoside and Madecassoside*

Pennywort (*Centella asiatica* L. Urban) is one of medicinal plants that contain a variety of secondary metabolites content including asiaticoside and madecasoside. Secondary metabolites content from pennywort plant has benefits for memory, burns, nerve disease, hypertension, asthma, bronchitis and urenitic. Secondary metabolites content can be improved by elicitation using elicitor of metal ion of Fe^{2+} . The administering of the metal ion Fe^{2+} on subculture medium will cause the existing of stress so production of secondary metabolites increased.

This research used method of RAL with one factor, namely concentration of Fe^{2+} . Research was begun by callus induction during 46 days, then callus was made subculture into medium treatment by concentration of Fe^{2+} (0, 90, 100, 110 μM). The observed parameters namely callus morphology (color and texture callus), callus weight and secondary metabolites content of asiaticoside and medacassoside. Morphological observation of callus was done visually weekly, while on fourth weeks callus weight was weighed using scales, and secondary metabolites content was analyzed by HPLC (High Performance Liquid Chromatography). The qualitative data was tested using ANOVA one way and analyzed by descriptive.

Test results of ANOVA showed that administering Fe^{2+} give effect on color and secondary metabolites content of asiaticoside and madecacosside, but has no real effect on texture and weight of callus. Ever higher the concentration of Fe^{2+} that added treatment medium makes color callus more concentrated, that indicate secondary metabolites content is ever higher. The highest weight is obtained at the treatment of Fe^{2+} concentration 110 μM , is 0,283 g. The highest secondary metabolites content of asiaticoside and madecacosside is in treatment with the addition of Fe^{2+} concentration in 100 μM is 3,792 g/100g and 4,423 g/100g. The optimum concentration of Fe^{2+} for development of secondary metabolites content of asiaticoside and madecacosside is on the concentration of 100 μM .

الملخص

صالحة، لوغياتي ل. 2014. تأثير Fe^{2+} إلى محتوى ميتابوليت ثانوي اسياتيكوسيدي وماديكاسوسيدي كينتيلا اسياتيكا (كينتيلا اسياتيكا ل. اوربان) على الوسيلة M S بزيادة 2،4، د ماء النارجيل. البحث. قسم علم الأحياء في كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف: د. افريكا ساندي سافيري، و الشرف الدين: أحمد نصيح الدين الماجستير.

الكلمات الأساسية: تأثير، Fe^{2+} ، كينتيلا اسياتيكا، اسياتيكوسيدي وماديكاسوسيدي

كينتيلا اسياتيكا هي واحدة من النباتات الطبية التي تحتوي على مجموعة المركبات الثانوية المتنوعة، بما في ذلك محتوى اسياتيكوسيدي وماديكاسوسيدي. محتوى المركبات الثانوية من النباتات كينتيلا اسياتيكا فعالة للذاكرة، والحروق، وارتفاع ضغط الدم، والأمراض العصبية، والربو، والتهاب الشعب الهوائية و اورينيتس. ويمكن تعزيز محتوى المركبات الثانوية باستخدام اليسيكتور ايونات المعادن Fe^{2+} . وتوفير ايونات المعادن Fe^{2+} في وسائل الإعلام ثقافة فرعية يسبب الإجهاد مما أدى إلى زيادة إنتاج المركبات الثانوية.

استخدام هذا البحث بطريقة RAL مع احدى عوامل تركيز يعني Fe^{2+} . يبدأ البحث بالبحث الكالس لمدة 46 يوما ثم علاج الكالس سبكالنور في الوسيلة مع تركيز Fe^{2+} (0، 90، 100، 100 μM). لاحظ المعلمات يعني التشكل الكالس (اللون والملمس من الكالس)، وزن الكالس ومحتوى المركبات الثانوية اسياتيكوسيدي وماديكاسوسيدي. الملاحظة المورفولوجية من الكالس به بصريا كل أسبوع، في حين أنه في الأسبوع الرابع من الكالس الثقيلة وزنه على التوازن، وجرى تحليل محتوى المركبات الثانوية باستخدام HPLC. تم اختبار البيانات النوعية باستخدام ANAVA في اتجاه واحد، في حين تم تحليل البيانات النوعية وصفا.

اما نتائج من تجربة ANAVA هي أن إدارة Fe^{2+} تأثير على لون ومحتوى المركبات الثانوية اسياتيكوسيدي وماديكاسوسيدي، ولكنها لم تؤثر تأثيرا حقيقيا على الملمس والوزن من الكالس. أضيفت ارتفاع تركيز Fe^{2+} الى الوسيلة ليكون العلاج أكثر تركيزا لون الكالس الذي يدل على المحتوى العالي من المركبات الثانوية. حصل أعلى وزن الكالس على العلاج من Fe^{2+} تركيز 110 μM هو 0.283 غرام. محتوى المركبات الثانوية اسياتيكوسيدي وماديكاسوسيدي أعلى في علاج بإضافة Fe^{2+} بتركيز 110 μM ، أي 3.792 غرام/100 غرام و 4.423 غرام/100 غرام. تركيز Fe^{2+} للنمو الكالس ومحتوى المستقلب الثانوي اسياتيكوسيدي وماديكاسوسيدي هو بتركيز 100 μM .